

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

LÍLIAN SILVA LAVAGNOLI

**ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS EM
DOIS HOSPITAIS DA ÁREA METROPOLITANA DE VITÓRIA-ES E
SEUS FATORES ASSOCIADOS**

VITÓRIA

2016

LÍLIAN SILVA LAVAGNOLI

ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS EM
DOIS HOSPITAIS DA ÁREA METROPOLITANA DE VITÓRIA-ES E
SEUS FATORES ASSOCIADOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Doenças Infecciosas.

Área de concentração: Epidemiologia das Doenças Infecciosas.

Orientador: Crispim Cerutti Junior

VITÓRIA

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade
Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

L392e Lavagnoli, Lílian Silva, 1985 -
Enterobactérias resistentes aos Carbapenêmicos em dois
Hospitais da Área Metropolitana de Vitória-ES e seus Fatores
Associados / Lílian Silva Lavagnoli – 2016.
60 f. : il.

Orientador: Crispim Cerutti Junior.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da
Saúde.

1. Enterobactérias. 2. Resistência a Antibióticos. 3. Fatores
de Risco. I. Cerutti Junior, Crispim. II. Universidade Federal do
Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

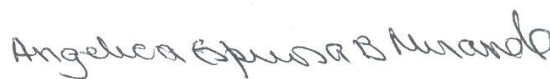
PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

A mestranda LILIAN SILVA LAVAGNOLI apresentou a dissertação intitulada “ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS EM DOIS HOSPITAIS DA ÁREA METROPOLITANA DE VITÓRIA-ES E SEUS FATORES ASSOCIADOS” em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu (X) **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar a farmacêutica bioquímica LILIAN SILVA LAVAGNOLI a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 31 de maio de 2016


Prof. Dr. Luiz Carlos Pedrosa Valli
(Membro Externo)


Profa. Dra. Angelica Espinosa Barbosa Miranda
(Membro Interno)


Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
(Orientador)

DEDICATÓRIA

A Deus, força que impulsiona as minhas conquistas. Pela saúde, oportunidade e por colocar em meu caminho pessoas que puderam contribuir para que este sonho se realizasse.

À minha mãe, pelo amor incondicional e pelo exemplo de mulher e ser humano.

Ao meu Patrick, pelo companheirismo, dedicação e incentivo nas minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Crispim Cerutti Junior, a minha admiração e gratidão, pois foi o melhor orientador que eu poderia ter. Por me acolher, me respeitar como profissional, me dar motivos para continuar e contribuir para o meu crescimento pessoal.

À Secretaria Estadual de Saúde e ao Laboratório Central pela autorização e contribuição para a execução deste trabalho.

Ao Hospital Estadual Central e Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória pelo fornecimento de dados.

Ao Dr. Bil Randerson Bassetti, o meu respeito e a minha gratidão pela dedicação, paciência, disponibilidade e contribuição para a realização deste trabalho.

Às microbiologistas Thaís Kaiser e Kátia Kutz, pela generosidade, disponibilidade e apoio.

Aos meus colegas de trabalho pelo companheirismo, amizade, compreensão nos momentos em que mais precisei e pelo crescimento diário que me proporcionam. Obrigada Elizabeth Boina, Newton César, Polyana Emilianne, Michele Corrêa, Cleides Nicomedes, Matheus Braga, Ana Carolina Travizan e Dayane Gouvêa.

Aos professores da Pós-graduação, pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos.

Às colegas do mestrado, Carla Baroni, Lays Bondi e Bruna Mendonça, pela força e incentivo.

Aos meus amigos da faculdade e da vida, que me incentivaram e torceram por mim. Em especial a Julyana Buery, Glênia Daros, Janine Leal e Valéria Cabral, por nunca me deixarem desanimar e estarem sempre presentes.

Aos meus queridos familiares e ao meu pai, que mesmo distante, sempre acreditou, orou e torceu pela minha vitória.

Ao Professor Dr. Rodrigo Ribeiro Rodrigues, pelo incentivo inicial e pelo respeito que me dedicou.

RESUMO

Há relatos de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) em todo o mundo, indicando que a disseminação da resistência se tornou um importante problema de saúde pública. Há necessidade de melhor compreensão sobre os aspectos envolvidos, incluindo os fatores de risco de infecção por esses microrganismos. O objetivo do presente estudo caso-controle exploratório foi identificar possíveis fatores de risco para a aquisição de cepas de Enterobactérias com marcador de resistência aos carbapenêmicos. A população do estudo constituiu-se de pacientes com amostra biológica positiva para ERC pela metodologia disco difusão e E-test e controles com amostra biológica negativa para ERC. Ao todo, 65 pacientes foram incluídos, 13 (20%) com ERC e 52 (80%) sem ERC. As ERC isoladas foram *Serratia marcescens* (6), *Klebsiella pneumoniae* (4) e *Enterobacter cloacae* (3). Análise univariada identificou tempo de internação até a coleta ($p < 0,001$), tempo total de internação ($p < 0,001$) e procedimento cirúrgico ($p = 0,004$) com significância estatística. No modelo de regressão logística, tempo de internação até a coleta permaneceu com significância, resultando em odds ratio de 0,934 (IC 95%: 0,882 a 0,989). Procedimento cirúrgico teve significância limítrofe ($p = 0,056$; OR = 9,293; IC 95%: 0,946 a 91,255). Análise separada de uso de carbapenêmicos revelou significância estatística ($p < 0,001$), entretanto, não se manteve na análise multivariada, que resultou em odds ratio de 0,91 (IC 95%: 0,752 a 47,63). O conhecimento dos fatores de risco associados a aquisição e a instituição de medidas preventivas pode contribuir decisivamente para a diminuição da propagação destes microorganismos no ambiente hospitalar.

Palavras-chave: Enterobactérias; Resistência a antibióticos; fatores de risco.

ABSTRACT

There have been worldwide reports of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE), indicating that the spread of resistance has become a major public health problem. A better understanding of the issues involved, including the risk factors for infection by these microorganisms, is therefore required. The aim of the present exploratory case-control study was to identify possible risk factors for acquisition of Enterobacterial strains with a marker for resistance to carbapenems. The study population consisted of patients with biological samples that tested positive for CRE with the disk diffusion test and Etest and controls with CRE-negative biological samples. In all, 65 patients were included: 13 (20%) with CRE and 52 (80%) without. The CRE isolated were *Serratia marcescens* (6), *Klebsiella pneumoniae* (4) and *Enterobacter cloacae* (3). Univariate analysis revealed that length of hospitalization prior to sample collection ($p < 0.001$), total length of stay ($p < 0.001$) and surgical procedure ($p = 0.004$) were statistically significant risk factors. In the logistic regression model, length of stay prior to sample collection was still significant, with an odds ratio of 0.934 (95% CI: 0.882 to 0.989). Surgical procedure was of borderline significance ($p = 0.056$; OR = 9.293; 95% CI: 0.946 to 91.255). Separate analysis of carbapenem use showed a statistically significant association ($p < 0.001$), however, it was not maintained in the multivariate analysis, which resulted in an odds ratio of 0.91 (95% CI: 0.752 to 47.63). A knowledge of the risk factors for infection by CRE and implementation of preventive measures could play a decisive role in reducing the spread of these microorganisms in hospital settings.

Keywords: Enterobacteriaceae; antibiotic resistance; risk factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica de <i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase.....	25
Figura 2 - Primers, Reagentes e ciclos utilizados na reação de PCR “ <i>in house</i> ”	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação das betalactamases.....	19
Tabela 2 - Espécies de Enterobactérias isoladas de 13 casos com amostras biológicas positivas para Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos e topografia do isolamento.....	36
Tabela 3 - Análise univariada dos fatores de risco para colonização e infecção por Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos.....	38
Tabela 4 - Análise multivariada de fatores de risco.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPC - Betalactamase Cromossômica

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC - American Type Culture Collection

CIM - Concentração Inibitória Mínima

dNTP - Deoxyribonucleotide triphosphates

DQ - Distância Interquartilica

ECDC - Centro Europeu de Controle e Prevenção de Doenças

ERC - Enterobactéria Resistente aos Carbapenêmicos

ESBL - Betalactamase de Espectro Estendido

EUA - Estados Unidos da América

FIOCRUZ - Fundação Osvaldo Cruz

HEC - Hospital Estadual Central

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HSCMV - Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória

IC - Intervalo de Confiança

ICARE - Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology

KPC - *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

LACEN/ES - Laboratório Central do Espírito Santo

LAPIH - Laboratório de Pesquisa em Infecção Hospitalar

MBL - Metalobetalactamase

min - Minuto

mM - Milimol

NDM - New Delhi Metalobetalactamase

°C - Graus Celsius

OR - *Odds Ratio*

Pb - Pares de base

PBP - Proteína Ligadora de Penicilina

PCR - Polymerase chain reaction

pmol - Picomol

SENTRY - Programa Internacional de Vigilância Antimicrobiana

TBE - Tris, Borato e EDTA

TSA - Teste de Sensibilidade Antimicrobiana

U - Unidade

UFES - Universidade Federal do Espírito Santo

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

UV - Ultravioleta

μL- Microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	IMPORTÂNCIA DAS ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES NO CONTEXTO DO CONTROLE DE INFECÇÕES RELACIONADAS À ATENÇÃO À SAÚDE.....	14
1.2	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS.....	16
1.3	CLASSIFICAÇÃO DAS BETALACTAMASES.....	17
1.4	DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA.....	20
1.5	EPIDEMIOLOGIA DA RESISTÊNCIA DAS ENTEROBACTÉRIAS.....	21
1.6	FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE ERC	26
2	JUSTIFICATIVA.....	28
3	OBJETIVOS.....	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	30
4.2	SELEÇÃO DOS ISOLADOS DE ENTEROBACTÉRIAS	30
4.3	TESTES FENOTÍPICOS	31
4.4	ESTOCAGEM DOS ISOLADOS DE ENTEROBACTÉRIAS	31
4.5	PCR “ <i>in house</i> ”	32
4.6	VARIÁVEIS E DEFINIÇÕES	33
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5	RESULTADOS.....	35
5.1	VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS	35
5.2	TOPOGRAFIA DO ISOLAMENTO E TIPOS DE ERC.....	35
5.3	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS.....	36
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS VARIÁVEIS	37
5.4.1	Análise Univariada	37
5.4.2	Análise Multivarida.....	39
6	DISCUSSÃO	41

7	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS.....	45
	ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

1.1 IMPORTÂNCIA DAS ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES NO CONTEXTO DO CONTROLE DE INFECÇÕES RELACIONADAS À ATENÇÃO À SAÚDE

Os membros da família *Enterobacteriaceae* são microrganismos gram-negativos isolados de materiais biológicos, da natureza e que geralmente colonizam o trato gastrointestinal do homem como microbiota normal, tornando-o um potencial reservatório destes agentes. Em indivíduos hospitalizados ou imunocomprometidos, podem colonizar também outros sítios como a orofaringe, o trato urogenital e a pele, aumentando o risco de infecções ¹.

O papel patogênico destes microrganismos emerge quando presentes em sítios geralmente estéreis, como sangue, cavidade peritoneal ou trato urinário. Devido a sua capacidade de alcançar diversos sítios, podem potencialmente causar infecções variadas, tais como em pele e tecidos moles, respiratórias e relacionadas ao uso de cateteres. É importante salientar que a patogenicidade dessa família de bactérias resistentes é frequentemente associada ao uso de dispositivos invasivos, como cateter venoso central ².

Muitos gêneros e centenas de espécies de Enterobactérias já foram descritos, sendo isolados em infecções hospitalares de importância clínica: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Serratia* spp. No entanto, os gêneros e espécies que predominam são: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp.³.

A espécie *Escherichia coli* está frequente relacionada a casos de infecção no trato urinário, enquanto os gêneros *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. são causas importantes de pneumonia hospitalar ⁴. Entretanto, todas as Enterobactérias têm sido implicadas em infecções de corrente sanguínea e infecções intra-abdominais ⁵.

As Enterobactérias têm desenvolvido mecanismos de resistência a vários agentes antimicrobianos, de forma que o surgimento de resistência aos carbapenêmicos tem se tornado frequente em infecções nosocomiais em todo o mundo, com disseminação rápida e progressiva ⁶.

Em instituições de cuidados à saúde, a principal via de transmissão de Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos (ERC) é a propagação de paciente a

paciente por meio das mãos contaminadas dos profissionais de saúde, que podem tocar um paciente colonizado, ou seus arredores, tornando-se temporariamente contaminados e, em seguida, tocar um paciente não colonizado sem a higienização adequada ¹.

Nesse contexto, a aquisição de ERC não depende somente das características individuais do paciente, mas também do estado de saúde de outros pacientes, da conformidade quanto às práticas de biossegurança pelos profissionais e das condições físicas da instituição de cuidados à saúde, como a disponibilidade de quartos para isolamento ^{1;7}.

A propagação de ERC constitui um importante problema de saúde pública em nível mundial, resultando em elevadas taxas de mortalidade entre os indivíduos acometidos ⁸. Estudos descrevem uma taxa de mortalidade associada a estas infecções que varia de 40% a 50% ⁹⁻¹⁰. A alta taxa relatada pode ser atribuída ao atraso da terapia antimicrobiana ou à falta do tratamento adequado, uma vez que cepas de ERC produzem enzimas que além de hidrolizar os carbapenêmicos, são capazes também de atuar sobre os demais betalactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos, restando poucas opções terapêuticas contra esses microrganismos ¹⁰⁻¹¹.

Estudos comparam a mortalidade e a morbidade entre pacientes infectados com ERC e pacientes não infectados e apontam fatores de risco associados às possíveis complicações dos pacientes infectados. Fatores como gravidade da doença subjacente e maior tempo de internação contribuem para que o paciente tenha os piores resultados ¹ e também para o aumento dos custos hospitalares ⁴.

Diversos estudos que comparam os fatores envolvidos nas possíveis complicações de um paciente infectado por ERC, descrevem uma taxa de mortalidade no mínimo três vezes maior entre estes pacientes quando comparados a pacientes infectados com Enterobactéria sensível aos carbapenêmicos ou mesmo sem infecção por Enterobactérias ¹¹⁻¹².

Devido às altas taxas de resistência antimicrobiana em Enterobactérias e às consequências decorrentes dessa expansão microbiana tanto para o paciente quanto para a instituição de cuidados à saúde, é necessário conhecer a epidemiologia local para que possa ser feita uma melhor seleção de antimicrobianos para o controle das infecções e para evitar a disseminação da resistência ⁹.

1.2 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS

A resistência das Enterobactérias resulta de mecanismos enzimáticos, com expressão de enzimas que atuam inativando antibióticos, e de mecanismos não enzimáticos. Dessa forma, o perfil de resistência aos betalactâmicos pode ser associado a vários mecanismos como: impermeabilidade, alteração da PBP (proteína ligadora de penicilina), alteração da expressão de porinas, sistema de efluxo e produção de enzimas ^{4;13}.

Os betalactâmicos se ligam covalentemente às PBPs localizadas na membrana citoplasmática, enzimas envolvidas na síntese da matriz rígida da parede celular bacteriana (peptidoglicano). Quando há modificação da PBP, pode haver uma diminuição da sensibilidade aos betalactâmicos pelas Enterobactérias, consequência da perda da afinidade por essas proteínas ⁴.

A maioria dos betalactâmicos são hidrófilos, com tamanho molecular inferior a 600 D, de forma que atravessam a membrana externa por meio de porinas. A relação das moléculas dos antimicrobianos com as porinas pode gerar fatores impeditivos a uma permeabilidade adequada, como moléculas hidrofóbicas, moléculas com alto peso molecular, que não conseguem introduzir-se nas porinas ou alteração na produção de porinas devido a mutações cromossômicas, que tanto podem impedir a sua síntese quanto levar à produção de moléculas com forma alterada, de maneira que o fármaco não consegue atravessar a membrana em concentração adequada para bloquear as PBPs ^{4;14}. Essas mutações ou deleções nos genes que codificam as porinas são mecanismos de resistência comuns em Enterobactérias ¹⁴.

O mecanismo de efluxo consiste em bombas de expulsão de antimicrobianos, que possuem função inversa a das porinas e, dessa forma, contribuem para a concentração inadequada das drogas, comprometendo sua efetividade ⁴. Em *Enterobacteriaceae*, os mecanismos de mutações porínicas e efluxo podem somar-se ao mecanismo enzimático de produção de betalactamases e aumentar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do antimicrobiano ⁴.

A produção de enzimas é o mecanismo de maior importância clínica relacionado à resistência das Enterobactérias aos carbapenêmicos ⁴. Dois tipos principais são associados a este perfil: a produção de carbapenemases ou uma combinação de mutações estruturais e a produção de outras enzimas betalactamases.

Enzimas carbapenemases atuam hidrolisando carbapenêmicos e também podem atuar sobre outros antibióticos betalactâmicos, como penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos ¹⁵.

Mecanismos como a produção de Betalactamase de Espectro Estendido (ESBL) ou de tipos como AMPC, conferem resistência aos carbapenêmicos quando associadas a perda ou alterações nas porinas, uma vez que isso dificulta a difusão do antibiótico através da membrana bacteriana ¹⁵. A resistência por expressão de AMPC em *Enterobacteriaceae* é mais comumente associada a hiperprodução de enzimas por indução ou depressão dos genes cromossômicos, embora também possa ser mediada por plasmídeos. Por outro lado, a resistência relacionada a ESBL geralmente está associada a plasmídeos ¹⁶. Há de se destacar que a disseminação de betalactamase de origem plasmidial é a forma mais crítica de resistência em *Enterobacteriaceae* ¹⁷.

Diante do exposto, dois mecanismos principais são responsáveis pela resistência aos carbapenêmicos em *Enterobacteriaceae*: a redução da permeabilidade da membrana externa por perda de porinas em associação com a produção de betalactamase de espectro estendido ou betalactamase tipo AMPC, e a produção de betalactamase do tipo carbapenemase ¹⁸.

1.3 CLASSIFICAÇÃO DAS BETALACTAMASES

Enzimas betalactamases pertencem a uma família com considerável diversidade, sendo que vários tipos já foram descritos e várias classificações propostas. No entanto, atualmente, dois esquemas de classificação são utilizados para essas enzimas. A classificação das betalactamases tem sido baseada tanto na estrutura primária das enzimas, de acordo com Ambler ¹⁹, quanto nas suas características funcionais, como atividade enzimática, segundo Bush e colaboradores²⁰.

Segundo Ambler, elas são classificadas baseadas em sua estrutura molecular e sequência genética, pertencendo a quatro classes moleculares: Classes A, C e D, que utilizam a serina para hidrólise do betalactâmico, e Classe B, constituída por metaloenzimas que utilizam ao menos um íon de zinco no sítio ativo para facilitar a hidrólise ¹⁹. No entanto, atualmente três classes são encontradas em Enterobactérias

ocorridas em todo o mundo: classe molecular A (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-KPC); Classe B (principalmente os tipos VIM, IMP e NDM) e Classe D (principalmente o tipo OXA-48) ²¹⁻²².

A classificação conforme Bush é baseada na atividade funcional e resulta em três grupos grandes e vários subgrupos, de forma que novos subgrupos têm sido adicionados ao conjunto, como resultado da expansão e identificação das grandes famílias de betalactamases de importância clínica, onde as variantes continuam a ser identificadas ¹⁶.

O grupo 1 é formado por enzimas cefalosporinasas pertencentes à Classe molecular C que são codificadas por cromossomos presentes em muitas Enterobactérias ²³. Conferem resistência a todas as classes de betalactâmicos. Entretanto, é necessário que estejam associadas a alterações nas porinas para que promovam resistência aos carbapenêmicos ²⁴.

O grupo funcional 2 inclui as classes moleculares A e D e representa o maior grupo de betalactamases, devido principalmente ao aumento na identificação das ESBL durante as duas últimas décadas. A maioria das enzimas incluídas neste grupo responde a inibição pelo ácido clavulânico ²⁴.

O grupo 3 é formado pelas Metalobetalactamases (MBL), que conferem resistência aos carbapenêmicos e todas as classe de betalactâmicos, com exceção dos monobactâmicos. Assim como o grupo 1, não são inibidas pelo ácido clavulânico. Se diferenciam estruturalmente das outras betalactamases por exigirem um íon zinco no sítio ativo ¹⁶.

A classificação de Bush, Jacoby e Medeiros, em 1995, incluía um grupo 4, o qual era caracterizado por apresentar o menor número de enzimas, sendo estas diversas e não incluídas em outros grupos ²⁰. Já a classificação proposta por Bush e Jacoby em 2009 não inclui este grupo, pois as enzimas não foram completamente caracterizadas ¹⁶.

Embora a abordagem estrutural seja a forma mais fácil de classificar um conjunto tão variado de enzimas, uma classificação funcional apresenta a vantagem de poder relacionar essas enzimas ao seu papel clínico, uma vez que é possível correlacionar as propriedades de uma enzima específica com o perfil de resistência observado em um isolado clínico ¹⁶. A tabela 1 correlaciona os dois esquemas de classificação utilizados atualmente, alinhando os principais tipos de enzimas que os representam.

Tabela 1 – Classificação das betalactamases ¹⁶.

Classificação Bush, Jacoby (2009) (Grupos)	Classificação Ambler (Classe Molecular)	Principais Tipos de enzimas
1	C	AmpC, P99,ACT-1, CMY-2,FOX-1, MIR-1
1e	C	GC1, CMY-37
2a	A	Penicilinases PC1
2b	A	TEM-1, TEM-2,SHV-1
2be	A	TEM-3, SHV-2,CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	TEM-30, SHV-10
2ber	A	TEM-50
2c	A	PSE-1, CARB-3
2ce	A	RTG-4
2d	D	OXA-1, OXA-10
2de	D	OXA-11, OXA-15
2df	D	OXA-23, OXA-48
2e	A	Cefalosporinases CepA
2f	A	KPC
3a	B	VIM, IMP,NDM
3b	B	CphA, Sfh-1

1.4 DISSEMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA

Nas últimas décadas, a frequência de casos de resistência antimicrobiana apresentou um aumento considerável em todo o mundo. Muitos fatores podem estar relacionados a este fato. No entanto, o uso excessivo de antibióticos continua sendo o principal contribuinte para o crescimento dessa taxa. Há de se destacar que a transmissão de bactérias resistentes de pessoa a pessoa e a transferência de genes de resistência entre bactérias também contribuem de forma significativa ⁹. Somada a isto, cita-se a globalização, que impulsiona o número de viagens e o comércio, de modo que mecanismos de resistência são disseminados em todo o mundo ²⁵.

O aumento da resistência aos carbapenêmicos em *Enterobacteriaceae* também tem sido sustentado pela seleção de linhagens clonais multirresistentes de alto risco, que se propagam facilmente tanto nos ambientes hospitalar quanto no comunitário ²⁶. Além disso, o deslocamento de pacientes colonizados, principalmente idosos, entre enfermarias e ambientes onde o tempo de cuidados à saúde é mais longo também pode contribuir para a disseminação da ERC ¹.

A presença de Betalactamase de Espectro Estendido (ESBL) em vários membros da família *Enterobacteriaceae*, principalmente entre as espécies *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, é de grande importância clínica e microbiológica ²⁷. Assim como as bactérias produtoras de carbapenemases (KPC), esses microorganismos frequentemente estão associados a infecções em ambiente hospitalar. No entanto, a resistência antimicrobiana associada a carbapenemases constitui o principal contexto em ERC ²⁸. Estudos também descrevem a coexistência de resistência a carbapenêmicos e produção de ESBL ^{8;29}.

A resistência aos betalactâmicos em *Enterobacteriaceae* pela presença de betalactamase de espectro estendido comumente é mediada por plasmídeos, enquanto a produção de carbapenemases pode ser também cromossomal ¹⁶. Carbapenemases adquiridas são codificadas por genes localizados em elementos móveis transferíveis, como plasmídeos e transposons, que podem se difundir e permitir a troca de material genético entre diferentes cepas e espécies ³⁰.

As enzimas carbapenemases mais prevalentes em Enterobactérias são codificadas por genes dos grupos *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM} e *bla*_{OXA} ³¹. No entanto, a carbapenemase do tipo KPC é uma das mais relevantes no aspecto epidemiológico, tendo em vista sua rápida e ampla disseminação mundial ²². Embora tenha sido

descrita primeiramente na espécie *Klebsiella pneumoniae* e disseminada a outras espécies da família *Enterobacteriaceae*, KPC foi detectada também em microrganismos não fermentadores, como *Pseudomonas* spp e *Acinetobacter* spp ³².

Plasmídeos que contêm o gene *bla_{KPC}* frequentemente transportam genes que também codificam resistência aos aminoglicosídeos, sulfas e fluoroquinolonas, além de atuar inibindo penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos ²¹.

Klebsiella pneumoniae carbapenemase apresenta alta incidência em indivíduos com patologias crônicas, em terapia intensiva, imunossuprimidos e submetidos a procedimentos cirúrgicos ³³. Sua extensa disseminação em ambiente hospitalar e os surtos provocados por ela são de difícil controle e podem levar a mortalidade de muitos pacientes diante das limitações quanto a um tratamento eficaz, uma vez que a propagação de resistência antimicrobiana minimiza as opções terapêuticas ³⁴.

A cada ano, é mais frequente o relato de casos de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos em países latino-americanos e em todo o mundo, de forma que a disseminação da resistência constitui um importante problema de saúde pública mundial, com elevado índice de mortalidade ^{4; 35}. A epidemiologia molecular de bactérias resistentes a carbapenêmicos tem sido amplamente investigada. Entretanto, há necessidade de melhor compreensão sobre os aspectos clínicos e epidemiológicos, incluindo os fatores associados a infecção e disseminação destes microrganismos, para melhor implantação de medidas de prevenção e controle ³⁶.

1.5 EPIDEMIOLOGIA DA RESISTÊNCIA DAS ENTEROBACTÉRIAS

No ano de 2001, foi publicado o primeiro relato de um fenótipo de resistência relacionado a produção de uma nova betalactamase, denominada KPC-1 ³⁷, proveniente de uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos (Imipenem e Meropenem). A cepa foi isolada em um hospital da Carolina do Norte nos EUA, durante a execução do projeto ICARE (Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology) que investigou a resistência antimicrobiana em hospitais que possuíam Unidade de Cuidado Intensivo, durante o período de 1994 a 1996 ³⁸⁻³⁹.

A partir deste primeiro isolamento, houve uma disseminação de KPC por vários países e continentes ⁴⁰. Entretanto, sua epidemiologia varia conforme a localização

geográfica. Países como China, Israel, Grécia, Itália, Polônia, Colômbia, Argentina, Brasil e alguns estados dos Estados Unidos são considerados áreas endêmicas (Figura 1) ⁴⁰. Atualmente, existem 10 variantes de KPC (KPC-2 a KPC-11), sendo as mais frequentes KPC-2 e KPC-3 ⁴¹.

Em 2004, foi identificado o primeiro espécime de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC-2 na China ⁴². Pouco tempo depois, uma grande variedade de membros da família *Enterobacteriaceae* KPC positivos foram identificados no país. Mesmo havendo relatos da variante KPC-3, o tipo KPC-2 é o mais comumente encontrado na China ⁴³.

Foram encontradas cepas de Enterobactérias produtoras de KPC no esgoto hospitalar de alguns hospitais chineses, o que gerou preocupação sobre a contaminação dos reservatórios de água e disseminação a outros ambientes. Por conseguinte, foram descritas também infecções comunitárias por microrganismos positivos para KPC-2 ⁴⁴.

Em Israel, havia poucos relatos de Enterobactérias produtoras de KPC. Entretanto, no ano de 2005, começou a haver disseminação de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC em hospitais, provavelmente importadas dos EUA, uma vez que a epidemia apresentou clones semelhantes aos de surtos ocorridos naquele país ⁴⁵. Após um grande aumento nos índices de resistência aos carbapenêmicos em Enterobactérias, em março de 2007, a incidência mensal em hospitais de cuidado intensivo atingiu um pico de 55,5 casos por 100 pacientes-dia. Seguindo-se as medidas de intervenção em nível nacional, em maio de 2008, foi registrada uma quantidade de 11,7 casos por pacientes-dia, evidenciando uma redução de quase 80% em relação ao obtido no período anterior ⁴⁶.

Austrália e Nova Zelândia são países com baixa prevalência de Enterobactérias produtoras de KPC. Poucos casos foram descritos nestes países, sendo que a maioria deles foi associada a pacientes com história de viagens a países endêmicos ou compartilhamento de quarto com pacientes com histórico de transferência de outros países ⁴⁰.

Um total de 26 países pertencentes à União Européia, no período de 2011 a 2014, disponibilizou ao Centro Europeu de Controle e Prevenção de Doenças (ECDC) informações laboratoriais sobre isolados de *Klebsiella pneumoniae* de sítios invasivos, com os seus respectivos resultados de Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA) aos carbapenêmicos. Diante do número total de isolados enviados por cada país e

baseado no respectivo TSA, foi calculado o percentual de resistência aos carbapenêmicos e a tendência baseada no período proposto.

Foi detectada uma tendência crescente em sete países (Bulgária, Croácia, França, Alemanha, Itália, Portugal e Espanha), enquanto um decréscimo foi observado no Chipre e na Grécia ⁴⁷. A média ponderada da população resistente aos carbapenêmicos apresentou um aumento de 6,0% em 2011 para 7,3% em 2014. Dos países envolvidos, 17 apresentaram um percentual de resistência inferior a 1%, como a Noruega e a Finlândia, enquanto três países apresentaram um percentual de resistência aos carbapenêmicos superior a 30%, a Grécia, a Itália e a Alemanha ⁴⁷.

A resistência antimicrobiana é uma questão de saúde pública de importância crescente na Europa. A prevalência é variável em todo o continente, de modo que nos países do sul é maior do que nos países do norte ⁴⁰. Muitos fatores podem estar associados a esta diversidade, como relações históricas, turismo médico, transferência de pacientes, viagens e entrada de refugiados.

No início da década de 2000, foram isolados os primeiros casos de Enterobactérias produtoras de carbapenemases na Itália e, no ano de 2008, a primeira Enterobactéria produtora de KPC-3, cuja fonte provável era uma médica proveniente de Israel ⁴⁸. O país apresenta uma tendência crescente em resistência antimicrobiana e, segundo dados da Rede de Vigilância de Resistência Antimicrobiana Européia (EARS-Net), a resistência aos carbapenêmicos em isolados de *Klebsiella pneumoniae* apresentou um aumento de 26,7%, em 2011, para 32,9% em 2014 ⁴⁷.

Na França, o primeiro espécime de KPC foi isolado no ano de 2005 de uma paciente proveniente de Nova York ⁴⁹. No período de 2011 a 2014, houve um aumento de 0,5% na resistência aos carbapenêmicos em isolados de *Klebsiella pneumoniae*. No entanto, o país apresenta menos de 1% desses isolados com perfil de resistência⁴⁹. É um país que apresenta baixa prevalência de KPC, sendo que os casos isolados geralmente são associados a pacientes transferidos de países onde está carbapenemase é endêmica, como a Itália⁵⁰.

Os primeiros relatos de *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC relacionados à Grécia ocorreram em 2007 na França e na Suécia, em pacientes que haviam sido admitidos previamente em hospitais da Grécia ⁵¹⁻⁵². A Grécia é o país europeu com maior incidência de ERC e se caracteriza pela transmissão internacional de KPC em pacientes colonizados ⁵³. Dados do ECDC, relacionados a 2014, mostram que de 1.088 isolados de *Klebsiella pneumoniae* de infecções invasivas, 62,3% apresentam

resistência aos carbapenêmicos ⁴⁷. Atualmente, *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC é um dos patógenos multirresistentes dominantes, acometendo pacientes tanto em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) quanto em enfermarias cirúrgicas.

Em 2009, oito casos foram relatados na Espanha, sendo importante salientar que não há registros de que esses pacientes tenham viajado a países endêmicos. Um caso em especial foi de colonização por Enterobactéria produtora de carbapenemase do tipo KPC-3, em paciente com pneumonia ⁵⁴. Houve um crescimento gradativo da resistência aos carbapenêmicos em isolados de *Klebsiella pneumoniae* no país no período de 2011 a 2014, de modo que o percentual aumentou de 0,3% para 2,3% ⁴⁷.

No Reino Unido, especificamente na Escócia, o primeiro relato de Enterobactéria produtora de KPC ocorreu em 2003, referente a uma variante KPC-4 de uma cepa de *Enterobacter sp.* Já o primeiro relato de uma *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC remonta ao ano de 2007, também na Escócia ⁵⁵. De acordo com dados do ECDC, em 2014, 0,8% dos isolados de *Klebsiella pneumoniae* em infecções invasivas apresentaram perfil de resistência aos carbapenêmicos ⁴⁷.

Entre 1996 e 2006, *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC tinha se disseminado por quase todo os EUA e se estabelecido como importante patógeno nosocomial ¹. Durante o primeiro semestre de 2012, um total de 3.981 hospitais norte-americanos participaram de um programa de vigilância em infecções sanguíneas e infecções do trato urinário associadas a cateteres e 4,6% deles relataram ao menos uma infecção relacionada a ERC ⁵⁶. Embora, nos EUA, as ERCs sejam identificadas principalmente nas instituições de cuidados à saúde, há uma tendência destes microrganismos de se difundirem para fora destes ambientes, uma vez que *Enterobacteriaceae* são um problema comum de infecções associadas à comunidade ⁵⁷.

A primeira descrição da enzima KPC proveniente de ERC na América Latina ocorreu em 2005 na Colômbia ⁵⁸ e houve uma rápida disseminação pelas regiões metropolitanas do país até 2009 ⁵⁹. Na Argentina, o primeiro isolado foi evidenciado em 2006 ⁶⁰. Segundo o SENTRY (Programa Internacional de Vigilância Antimicrobiana), o país apresentou um aumento considerável de 2008 a 2010 e é caracterizado como endêmico ^{40;61}.

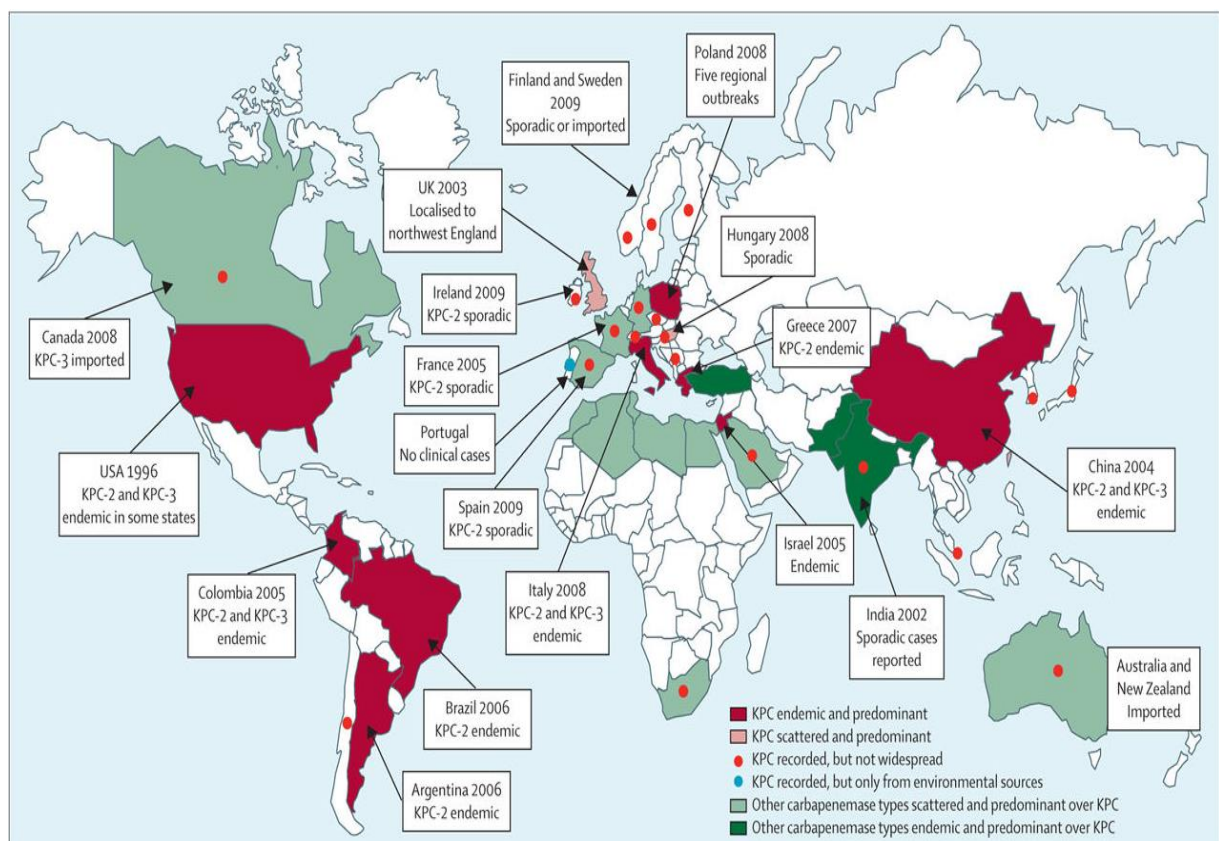
No ano de 2006, foram confirmados os primeiros casos de *Klebsiella pneumoniae* resistente aos carbapenêmicos no Brasil, na cidade de Recife, sendo detectada a presença do gene *bla_{Kpc2}* ⁶². Pouco tempo depois, foram relatados casos

no Sudeste do país, sendo detectada a carbapenemase KPC-2 em cepas de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de dois hospitais no Rio de Janeiro, no período de 2007 a 2008 ⁶³.

Estudos realizados pelo SENTRY relatam um aumento no número de casos no país no período de 2008 a 2010, de modo que a *Klebsiella pneumoniae* KPC-2 tornou-se endêmica no Brasil, inclusive sendo detectada em água residual de Hospital ^{61; 64}.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), entre 2009 e 2010, houve relatos em várias regiões, incluindo Espírito Santo (três casos), Goiás (quatro), Minas Gerais (12), Santa Catarina (três), Distrito Federal (157) e São Paulo (70) ⁶⁵. De fato, *Klebsiella pneumoniae* produtora de KPC-2 se disseminou pelo Brasil, atingindo tanto capitais quanto pequenas cidades brasileiras ⁶⁶.

Figura 1 – Distribuição geográfica de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase⁴⁰.



Fonte: Munoz-Price et al, 2013.

1.6 FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE ERC

A aquisição de ERC geralmente está associada ao ambiente hospitalar ou instituições de cuidados à saúde, sendo mediada pelo contato com o paciente colonizado ou infectado, caso não sejam respeitadas normas básicas de precaução de contato, de higiene de mãos e de desinfecção ⁵⁶.

Muitas variáveis relacionadas ao ambiente hospitalar e à exposição aos cuidados à saúde podem ser estabelecidas como fatores de risco para colonização e infecção por ERC. Dentre elas, citam-se: idade avançada, comorbidades, uso prévio de antimicrobianos, recepção de órgãos transplantados, tempo de permanência hospitalar e exposição a procedimentos invasivos, como ventilação mecânica ⁶⁷⁻⁶⁸. No entanto, fatores individuais como tempo de internação, exposição a procedimentos cirúrgicos e uso de dispositivos devem ser considerados levando em conta a epidemiologia local, devido à facilidade da ERC em se disseminar no ambiente de cuidados à saúde ⁶⁹.

Estudos revelam que a condição endêmica local apresenta forte influência sobre a colonização retal por ERC, sendo que, em um contexto de altos níveis endêmicos, o risco de colonização é estimado em cerca de 5% ⁷⁰⁻⁷¹. Além disso, a aquisição de ERC é tempo-dependente, o que é evidenciado por estudos que revelam aumento na prevalência de colonização entre pacientes que tiveram um período de internação prolongado, com admissão na UTI, de 6% a 7% na primeira internação para 27% a 59% na internação seguinte ⁷²⁻⁷³. Este fato não foi observado em pacientes provenientes da comunidade, que são menos propensos a colonização retal ⁷⁴⁻⁷⁵.

Além da internação em UTI, a transferência entre unidades de internação e o compartilhamento de um quarto com um paciente colonizado são descritos como fatores de risco significativos para aquisição de ERC ⁷². Este dado reafirma a necessidade do conhecimento mais abrangente de fatores de risco relacionados à transmissão dos patógenos resistentes e da implantação de medidas eficazes a fim de conter a ampla transmissão de plasmídeos com o traço de resistência, mediada principalmente pelo contato com o portador de ERC.

O uso de antibióticos de amplo espectro como carbapenêmicos, betalactâmios e cefalosporinas, bem como a duração da terapia antimicrobiana, têm sido descritos como os principais determinantes da permanência da ERC no portador, sendo que a exposição prévia aos carbapenêmicos ocorre em uma frequência de 15% a 75% em

pacientes colonizados ⁷⁶⁻⁷⁷. Há de se destacar que, embora o uso prévio de antimicrobianos associado a um longo período de internação seja fator de risco influente sobre a colonização por ERC, há estudos que alertam para a importância de avaliar a possibilidade de aquisição da resistência aos carbapenêmicos em pacientes viajantes em países com elevada prevalência, mesmo sem terem sido internados em instituições de cuidados à saúde ⁷⁸.

Habitualmente, a infecção por ERC é precedida pela colonização, que está associada principalmente ao trato gastrointestinal. No entanto, os tratos respiratório e urinário também podem ser acometidos e, após estabelecida a colonização, o indivíduo pode abrigar o microrganismo por dias ou meses ⁶⁹. Estima-se que o tempo médio em um portador seja em torno de três meses. Entretanto, em uma proporção significativa, este tempo pode ser mais longo ⁷⁹.

Há relatos de que 10% a 30% dos pacientes colonizados por ERC irão desenvolver infecção ⁸⁰. Porém, sabe-se que a infecção é fortemente influenciada pelas características do paciente e pela patogenicidade de cada microrganismo. Pacientes com comorbidades subjacentes, imunocomprometidos e receptores de transplantes se caracterizam como população fortemente vulnerável ao risco de infecção por ERC, especialmente em um curto período após o transplante, quando há comprometimento do sistema imune ⁸⁰⁻⁸¹.

É importante salientar que fatores como o tempo de duração da terapia antimicrobiana e a exposição a procedimentos invasivos, como a ventilação mecânica e uso de cateteres venoso e urinário, estão fortemente associados a um maior risco de infecção por ERC. Além disso, muitas variáveis estabelecidas podem contribuir para a morte de pacientes colonizados ⁸².

2 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, a infecção hospitalar vem apresentando mudanças em seu perfil epidemiológico, com destaque para o crescimento do número de casos de bactérias multirresistentes que têm acometido pacientes internados.

Sabe-se que essas bactérias hospitalares, além de apresentarem resistência a múltiplos antibióticos, têm a capacidade de tornar resistentes outras bactérias, fato que pode ser devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos e às condições de higienização hospitalar.

Diante do aumento na frequência de infecção por bactérias multirresistentes em hospitais do Brasil, medidas para diminuir a taxa de infecção hospitalar por esses patógenos são necessárias. No entanto, é importante conhecer melhor o perfil epidemiológico determinante da disseminação destes organismos para, assim, aperfeiçoar o uso da terapia antimicrobiana.

Muitas informações disponíveis são limitadas a condições específicas, de modo que neste contexto, a investigação de fatores de risco relacionados à transmissão dos patógenos resistentes não pode ser totalmente apreciada, quando restrita às bactérias específicas, se o fator envolvido é a transmissão por plasmídeos com o traço de resistência. Este fato evidencia a importância de um estudo que aborde a infecção e a colonização por ERC de forma generalizada, sem especificar o gênero da bactéria ou condição clínica.

3 OBJETIVOS

- Comparar as características de pacientes diagnosticados com Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos com as características dos pacientes que não apresentaram Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos em ambiente hospitalar considerando variáveis demográficas e clínicas.
- Identificar as principais variáveis associadas à aquisição de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos em ambiente hospitalar.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Este estudo caso-controle envolveu pacientes atendidos em Hospitais da Região Metropolitana de Vitória que tiveram amostras com suspeitas de KPC enviadas ao Laboratório Central do Espírito Santo (LACEN/ES) e confirmadas como Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos no Laboratório de Microbiologia Médica no período de 01/01/2013 a 31/07/2014.

Inicialmente, foi feita a identificação dos indivíduos suspeitos de infecção por KPC neste período, seguido da determinação do Hospital onde ocorreu a internação. Os indivíduos envolvidos no estudo foram aqueles internados no Hospital Estadual Central e no Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória, no período estabelecido. A coleta de dados foi feita por meio de uma abordagem baseada em consulta aos prontuários desses pacientes. Concomitantemente, foram obtidos dados dos prontuários de pacientes internados na mesma unidade de internação e no mesmo período, mas que não tiveram isolado de Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos na amostra biológica analisada. Foram excluídos do estudo, os indivíduos cujos prontuários tiveram menos de 50% dos dados necessários.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, com o número 908.781.

4.2 SELEÇÃO DOS ISOLADOS DE ENTEROBACTÉRIAS

Foram selecionados, para este estudo, nove isolados pertencentes ao Hospital Estadual Central (HEC) e quatro isolados pertencentes ao Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória (HSCMV), de um total de 115 isolados de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos identificados por meio de testes fenotípicos (item 4.3) no LACEN, provenientes de 13 hospitais diferentes. Estes hospitais foram selecionados por aceitarem participar do estudo e pela disponibilidade de um Médico Infectologista para acompanhar a coleta de dados no prontuário eletrônico. Os dados coletados dos pacientes foram incluídos no banco de dados do programa SPSS versão 17,0.

4.3 TESTES FENOTÍPICOS

Culturas encaminhadas ao LACEN/ES inicialmente foram submetidas a testes bioquímicos de determinação do metabolismo bacteriano (Himedia, Mumbai-India) para identificação do gênero/espécie, que incluem: prova de fermentação da glicose, sacarose e lactose; produção de gás CO₂; motilidade; produção de indol; hidrólise da ureia; descarboxilação dos aminoácidos lisina, arginina e ornitina; utilização do citrato e malonato como fonte de carbono; produção da enzima fenilalanina desaminase e produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) ⁸³.

Após identificação, as amostras foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelos métodos de disco difusão em ágar Mueller-Hinton (Oxoid, Hampshire-United Kingdom) e Etest® (Biomerieux, Marcy-l'Étoile - France), para confirmar o perfil de resistência aos carbapenêmicos (Ertapenem, Imipenem ou Meropenem), de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ⁸⁴⁻⁸⁵ e modificações incluídas nas Notas Técnicas da ANVISA N° 1/2012 e N° 01/2013 ^{22;86}. Também foram submetidas ao teste de Hodge modificado ⁸⁴⁻⁸⁵, assim como à detecção de Betalactamase de Espectro Estendido (ESBL) e Metalobetalactamase (MBL) por Etest® (Biomerieux, Marcy-l'Étoile - France), e Betalactamase AMPC por disco difusão em ágar Mueller-Hinton (Oxoid, Hampshire-United Kingdom).

4.4 CONSERVAÇÃO DOS ISOLADOS DE ENTEROBACTÉRIAS

Todos os isolados analisados foram semeados em tubo contendo ágar nutriente inclinado (Himedia, Mumbai-India), incubados em estufa a 37°C por um período de 18-24 horas e conservados em temperatura ambiente. Posteriormente, os isolados identificados como Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos (Ertapenem, Imipenem ou Meropenem) foram encaminhados ao Laboratório de Pesquisa em Infecção Hospitalar da Fundação Osvaldo Cruz (LAPIH/FIOCRUZ) e submetidas à pesquisa de genes de resistência por meio da metodologia PCR *“in house”*, para detecção do gene *bla_{KPC}* (Item 4.5).

4.5 PCR “in house”

O gene alvo para esta reação de PCR é o *bla_{KPC}*. O controle positivo utilizado foi uma cepa CCBH 4640 (*K. pneumoniae* ST437 – KPC-2) e o controle negativo uma cepa ATCC 700603 (*K. pneumoniae* ESBL positiva). Os primers utilizados foram: KPC-A (5'-CTGTCTTGTCTCTCATGGCC-3') e KPC-B (5'-CCTCGCTGTGCTTGTTCATCC-3')⁸⁷.

Após a amplificação dos produtos, foi realizada eletroforese em gel de agarose a 1,5% (Invitrogen™, Carlsbad - EUA), preparado em tampão TBE 0,4X, em temperatura ambiente com corrente sujeita a variação de 80 a 120V por aproximadamente 30min. Para visualização dos produtos amplificados, após a corrida, o gel foi impregnado em brometo de etídio (0,5g/L) durante 15 minutos e descorado em água por 15 minutos. A seguir, o gel foi observado em luz UV e fotografado em máquina Polaroid pelo Sistema de Foto Documentação Gel Doc. A metodologia foi realizada segundo o protocolo do LAPIH/FIOCRUZ (Figura 2).

Figura 2 – Primers⁸⁷, Reagentes e ciclos utilizados na reação de PCR “in house”.

Gene alvo: <i>bla_{KPC}</i>			
Primer 1: KPC-A (5'-CTGTCTTGTCTCTCATGGCC-3')			
Primer 2: KPC-B (5'-CCTCGCTGTGCTTGTTCATCC-3')			
DNA polymerase: Gotaq flexi 5U/μL (Promega)			
PCR Produto: 795pb			
Observações: Referência dos primers: Naas T., Cuzon G., Villegas M.V., Lartigue M.F., Quinn J.P., Nordmann P. 2008. Genetic Structures at the Origin of Acquisition of the b-Lactamase <i>bla_{KPC}</i> Gene. Antimicrob Agents Chemother 52: 1257/1263.			
Reagentes	Concentração dos reagentes na reação	Qtde p/ 1 amostra	Ciclos
H ₂ O	q.s.p 25μL	14,25 μL	1. 3 min - 94°C 2. 35 ciclos: 1 min – 94°C 1 min – 50°C 1 min – 72°C 3. 10 min - 72°C 4. hold 4°C
5X PCR buffer (Promega)	1X	5 μL	
10 mM dNTP mix (Invitrogen ou Fermentas)	0,2 mM	0,5 μL	
25 mM MgCl ₂ (Promega)	1,5 mM	1,5 μL	
Primer 1 (20 pmoles/μL)	25 pmoles	1,25 μL	
Primer 2 (20 pmoles/μL)	25 pmoles	1,25 μL	
Gotaq flexi (5U/μL) (Promega)	1,25 U	0,25 μL	
Volume total	25 μL	24 μL	
DNA		1 μL	

Fonte: LAPIH/FIOCRUZ

4.6 VARIÁVEIS E DEFINIÇÕES

Casos foram definidos como pacientes com amostra biológica positiva para *Enterobactéria* resistente aos carbapenêmicos (ERC), a partir do método de disco difusão e Etest®, e controles foram pacientes com amostra biológica negativa para *Enterobactéria* resistente aos carbapenêmicos.

Para cada paciente do grupo caso, foram selecionados quatro pacientes controles da mesma unidade de internação, internados durante o mesmo período e com amostra biológica prioritariamente proveniente do mesmo sítio de coleta daquela do caso.

Os aspectos investigados como possíveis fatores de risco foram: sexo; idade; internação anterior nos últimos 90 dias; internação em UTI; tempo de internação; uso de cateter ou dispositivo; cirurgia realizada durante a internação atual; comorbidades e antimicrobianos utilizados durante a internação atual. Os dados foram obtidos por meio de uma ficha estruturada (Anexo C).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas contínuas foram representadas pelas suas medidas de posição central e variabilidade. Neste estudo, foram utilizadas mediana e distância interquartilica por não ter havido adequação ao modelo de Gauss. As variáveis categóricas foram representadas pelas suas frequências absolutas e relativas.

Ao considerar a associação das diversas variáveis estabelecidas no instrumento de coleta de dados e o desfecho em questão (presença ou não de *Enterobactéria* resistente aos carbapenêmicos), as respostas categóricas foram comparadas pelo teste Exato de Fisher por terem sido detectadas frequências esperadas menores do que cinco. As respostas contínuas foram comparadas pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. As variáveis cuja associação com o desfecho revelaram um p-valor de 0,2 ou menor foram incluídas no modelo multivariado.

As análises multivariadas foram conduzidas por meio de regressão logística. A determinação das medidas de efeito foi feita por meio da razão das chances (*odds*

ratio) e seu respectivo intervalo de confiança de 95%. O ajuste ao modelo foi verificado pelo teste de Hosmer Lemeshow.

5 RESULTADOS

5.1 VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS

Um total de 65 pacientes foi incluído neste estudo, sendo 13 pacientes com amostras biológicas positivas para Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos (casos) e 52 com amostras negativas para Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos (controles).

No grupo casos, sete indivíduos (53,8%) eram do sexo feminino e a mediana de idade foi de 54 anos (distância interquartílica – DQ: 46 a 79 anos). O grupo controle foi composto em sua maioria por indivíduos do sexo masculino (30; 57,7%) e apresentou uma mediana de idade de 65,5 anos (distância interquartílica – DQ: 46,5 a 78,3 anos).

5.2 TOPOGRAFIA DO ISOLAMENTO E TIPOS DE ERC

Entre os 13 casos com Enterobactérias isoladas, seis (46,1%) foram *Serratia marcescens*, quatro (30,8%) *Klebsiella pneumoniae* e três (23,1%) *Enterobacter cloacae*. Os sítios de isolamento foram urina (quatro; 30,8%), sangue (duas; 15,4%), secreção de ferida (duas; 15,4%) e outros sítios (cinco; 38,5%) (tabela 2).

Entre os 52 pacientes do grupo controle, as amostras coletadas foram: sangue (20; 38,5%), urina (19; 36,5%), aspirado traqueal (quatro; 7,7%) e outras (nove; 17,3%).

Dos 13 isolados bacterianos de ERC submetidos à pesquisa de genes de resistência por meio da metodologia PCR “*in house*”, nove (69,2%) apresentaram o gene *bla_{KPC}* detectável, correspondendo a quatro isolados de *Klebsiella pneumoniae*, três de *Enterobacter cloacae* e dois de *Serratia marcescens*.

Tabela 2 - Espécies de Enterobactérias isoladas de 13 casos com amostras biológicas positivas para Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos e topografia do isolamento.

ENTEROBACTÉRIA	TIPO DE AMOSTRA
<i>Enterobacter cloacae</i>	Swab inguinal
<i>Enterobacter cloacae</i>	Fragmento de tecido
<i>Enterobacter cloacae</i>	Urina
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Urina
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Urina
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Aspirado traqueal
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Sangue
<i>Serratia marcescens</i>	Secreção de partes moles
<i>Serratia marcescens</i>	Líquido cefalorraquidiano
<i>Serratia marcescens</i>	Urina
<i>Serratia marcescens</i>	Secreção de ferida
<i>Serratia marcescens</i>	Secreção de ferida
<i>Serratia marcescens</i>	Sangue

5.3 DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS

De um total de 13 casos incluídos neste estudo, a admissão em UTI foi frequente na maioria dos pacientes, uma vez que 11 (84,6%) destes tiveram um período de internação nesta unidade hospitalar. O grupo controle apresentou uma frequência menor de pacientes admitidos na UTI, correspondendo a 55,8% de um total de 52 pacientes.

Dez casos (76,9%) sofreram inserção de um dispositivo invasivo. O dispositivo tubo orotraqueal foi o mais frequente, sendo utilizado em sete (53,9%) pacientes do grupo caso, seguido da sonda vesical de demora, que foi utilizada em seis (46,15%), e cateter venoso central (CVC) em cinco (38,5%). A variável em análise foi bem distribuída entre os pacientes do grupo controle, de modo que 27/52 (51,9 %) foram expostos a pelo menos um tipo de cateter ou dispositivo invasivo.

Dos pacientes do grupo caso, nove (69,2%) foram submetidos a terapia antimicrobiana com carbapenêmicos previamente à coleta da amostra biológica na qual foi isolada a ERC e 12 (92,3%) receberam ao menos dois outros tipos de antibióticos pertencentes a classes diferentes. No grupo controle, uma frequência

menor de pacientes utilizou antibióticos da classe dos carbapenêmicos, correspondendo a 15,4% (oito pacientes). No entanto, 39 (75%) receberam algum tipo de antimicrobiano.

No que diz respeito a comorbidades, a maioria dos pacientes envolvidos no estudo apresentou ao menos um tipo. Segundo dados dos prontuários hospitalares, de um total de 65 pacientes, 41 apresentavam alguma patologia subjacente ao motivo de internação. No grupo caso, houve uma frequência de 11 pacientes (84,6%) e, no grupo controle, 40 (76,9%). As comorbidades mais frequentes entre os pacientes estudados foram: hipertensão arterial sistêmica (35,4%), diabetes mellitus (24,6%), cardiopatia (13,8%), infecção pelo HIV (12,3%), neoplasia maligna (7,7%) e acidente vascular cerebral (4,6%).

A variável internação anterior nos últimos 90 dias apresentou frequência semelhante entre os pacientes do grupo caso e do grupo controle. Em ambos, cerca de 50% dos pacientes não relatavam internação hospitalar prévia seja no hospital de estudo, seja em outras instituições de saúde.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS VARIÁVEIS

5.4.1 Análise Univariada

A análise univariada das variáveis analisadas como fatores de risco para colonização ou infecção por ERC mostrou que tempo de internação até a coleta ($p<0,001$), tempo de internação total ($p<0,001$) e realização de procedimento cirúrgico ($p=0,004$) apresentaram significância estatística (tabela 3).

Tabela 3 - Análise univariada dos fatores de risco para colonização e infecção por Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos.

CARACTERÍSTICAS	CASOS (N=13)	CONTROLES (N=52)	p
Sexo			
Masculino	6 (46,2 %)	30 (57,7%)	0,54*
Feminino	7 (53,8 %)	22 (42,3%)	
Idade			
Mediana	54 anos	65,5 anos	0,7**
Distância Interquartílica	46 a 79 anos	46,5 a 78,3 anos	
Tempo de internação até a coleta			
Mediana	34 dias	12 dias	<0,001**
Distância Interquartílica	27 a 93,5 dias	5,2 a 21 dias	
Tempo total de internação			
Mediana	77 dias	27,5 dias	<0,001**
Distância Interquartílica	58 a 122 dias	14,3 a 45 dias	
Procedimento cirúrgico			
Sim	11 (84,6 %)	19 (36,5 %)	0,004*
Não	2 (15,4 %)	33 (63,5 %)	
Internação anterior (90 dias)			
Sim	6 (46,2 %)	26 (50,0 %)	0,99*
Não	7 (53,8 %)	26 (50,0 %)	
Admissão em UTI			
Sim	11 (84,6 %)	29 (55,8 %)	0,06*
Não	2 (15,4 %)	23 (44,2 %)	
Uso de Cateter e/ou Dispositivo			
Sim	10 (76,9 %)	27 (51,9 %)	0,13*
Não	3 (23,1 %)	25 (48,1 %)	
Comorbidades			
Sim	11 (84,6 %)	40 (76,9 %)	0,71*
Não	2 (15,4 %)	12 (23,1 %)	
Uso de Antibióticos			
Sim	12 (92,3 %)	39 (75,0 %)	0,27*
Não	1 (7,7 %)	13 (25,0 %)	
Total	13	52	-

* Teste Exato de Fisher; ** Teste de Mann -Whitney.

5.4.2 Análise Multivariada

Foram incluídas, no modelo de regressão logística, todas as variáveis que na etapa inicial apresentaram um p-valor menor que 0,2. Portanto, as seguintes variáveis foram incluídas: tempo de internação até à coleta, tempo total de internação, internação em UTI, uso de cateter ou outro dispositivo e realização de procedimento cirúrgico. O modelo foi ajustado pelo teste de Hosmer e Lemeshow.

A variável que permaneceu significativa foi tempo de internação até a coleta, com Odds Ratio (OR) = 0,934 (IC 95%: 0,882 – 0,989), indicando que cada dia a menos de internação até a coleta resulta em uma probabilidade 6,6% menor de isolamento de Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos (tabela 4).

Procedimento cirúrgico resultou em um p-valor próximo da significância ($p = 0,056$), com uma OR elevada (9,3), indicando uma probabilidade nove vezes maior de isolamento de Enterobactéria resistente naqueles submetidos a procedimentos cirúrgicos. A ausência de significância pode ser decorrente do pequeno tamanho da amostra, resultando em baixo poder do teste. Isto fica evidente quando se observa o intervalo de confiança extremamente largo (0,95 a 91,25). Assim, poderíamos concluir que, com uma amostra maior, poderia vir a ser evidenciada a significância também desta variável no modelo multivariado.

Foi realizada uma análise separada da exposição a carbapenêmicos que revelou diferença estatisticamente significativa, com 69,2% de exposição entre os casos e 15,4% entre os controles ($p < 0,001$ – Teste Exato de Fisher). Contudo, a significância não se manteve no modelo multivariado, com OR = 0,91 (IC 95%: 0,752 – 47,63), e a inclusão da variável não modificou o resultado das restantes no modelo (dados não mostrados).

Tabela 4 - Análise multivariada de fatores de risco para colonização e infecção por Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos.

CARACTERÍSTICAS	ODDS RATIO [95% CI] (p-valor)
Tempo de internação até a coleta	0,934 [0,882 – 0,989] (p=0,019)
Tempo total de internação	1,000 [0,973 – 1,028] (p=0,997)
Admissão em UTI	1,694 [0,086 – 33,331] (p=0,729)
Uso de Cateter e/ou Dispositivo	1,680 [0,127 – 22,198] (p=0,694)
Procedimento cirúrgico	9,293 [0,946 – 91,255] (p=0,056)

6 DISCUSSÃO

Diversos estudos têm tido como objetivo a identificação de fatores de risco para aquisição de ERC. Entretanto, a maioria das informações disponíveis é geralmente associada a uma bactéria específica⁸⁸⁻⁹¹ ou a tipos específicos de infecção^{10;92}.

Diante da heterogeneidade de Enterobactérias e mecanismos de resistência, é importante um estudo de forma mais abrangente^{6;93-96}, uma vez que a identificação dos fatores associados a colonização ou infecção dos pacientes pode orientar medidas preventivas e de controle, especialmente em hospitais de recursos limitados⁶.

Esse é o primeiro estudo caso-controle exploratório que visa a estabelecer os possíveis fatores de risco para o isolamento de cepas de Enterobactérias com marcador de resistência aos carbapenêmicos de forma abrangente no estado do Espírito Santo. O estudo incluiu indivíduos com características diferentes, tanto demográficas quanto patológicas, mas que estavam internados no mesmo período, estando todos expostos à aquisição de ERC em virtude da ampla disseminação da resistência bacteriana.

Diante da natureza exploratória e da definição de caso muito abrangente, este estudo pode não ter poder suficiente para comprovar hipóteses, embora seja adequado para estabelecê-las, uma vez que estudos caso-controle exploratórios são utilizados nas situações de investigação de surtos com o propósito de estabelecer hipóteses mais consistentes e, assim, fundamentar medidas de intervenção.

Neste estudo, o sítio mais comum de isolamento de ERC foi urina (30,8%), estando de acordo com estudos realizados aqui no Brasil. Entretanto, estes estudos possuem restrição na definição de caso, pois um aborda especificamente infecções por ERC em pacientes pediátricos⁹⁴ e, o outro, infecções por ERC produtoras de carbapenemase do tipo KPC⁹⁷.

O percentual de isolados bacterianos de ERC que apresentaram o gene *bla*_{KPC} foi superior em *Klebsiella pneumoniae*, corroborando a informação de estudos realizados tanto no Brasil⁹⁷, quanto em países europeus⁴⁷. Entretanto, uma frequência de 69,2% de todos os isolados apresentaram o gene *bla*_{KPC}. Este dado destaca a importância de conhecer o perfil epidemiológico destes microrganismos de forma sistêmica, pois embora a produção de carbapenemase do tipo KPC seja o mecanismo de resistência mais relevante do ponto de vista epidemiológico, o perfil de

resistência bacteriana aos carbapenêmicos pode estar associado também a outros mecanismos de resistência.

Estudos descrevem a importância de determinar os fatores associados a aquisição de ERC, mesmo em ambientes de cuidados à saúde onde a produção de carbapenemase do tipo KPC não é o principal mecanismo de resistência bacteriana, uma vez que é sabido que infecções por ERC representam uma séria ameaça em nível mundial porque resultam em elevada morbidade e mortalidade dos pacientes ⁹³.

Os casos envolvidos neste estudo incluem isolados de Enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos que apresentam ou não gene *bla*_{KPC}. Isso foi feito deliberadamente para permitir uma definição de caso mais abrangente e buscar associações de fatores com o que realmente importa nas ações preventivas no âmbito da epidemiologia hospitalar, ou seja, impedir a disseminação de bactérias multirresistentes.

A frequência de 92,3% dos casos que receberam terapia antimicrobiana prévia está de acordo com um estudo realizado por Norcia e colaboradores, que revela uso de antimicrobianos pela maioria dos pacientes colonizados e infectados por ERC ⁹⁴. No que diz respeito à utilização de carbapenêmicos, entre os casos, este estudo apresentou maior frequência (69,2%) quando comparado a outros que descrevem 15,1%⁹⁸, 22%⁹⁵, 28,6%⁹⁴, 30,5%⁹³ e 44,4%⁹⁹ dos pacientes submetidos a antibióticos desta classe.

Internação na Unidade de terapia Intensiva foi frequente na maioria dos pacientes com ERC (84,6%), mas há de se destacar que, neste estudo, não houve separação dos pacientes colonizados e infectados. Um estudo com o mesmo delineamento descreve taxas de admissão em UTI de 39,5%⁹⁷ para ambos, pacientes colonizados e infectados. Outro revela 49,1% de internação em Unidade de Terapia Intensiva somente para pacientes colonizados por ERC⁶. São, também, reveladas frequências diferentes entre pacientes colonizados e infectados, com taxas de 29,6 e 75%, respectivamente ⁹⁴.

Este estudo apresentou similaridade com outros estudos no que diz respeito à utilização de dispositivos invasivos ^{93;98;100}, como cateter venoso central, sonda vesical de demora e tubo orotraqueal, pela maioria dos casos envolvidos. Embora a frequência de utilização de sonda vesical de demora tenha sido próxima ao estudo realizado por Ling e colaboradores ⁹³, foi encontrada diferença quanto ao dispositivo mais frequente, uma vez que tubo orotraqueal foi o dispositivo prevalente neste

estudo, enquanto outros com o mesmo delineamento apontam cateter urinário^{93;96} e venoso central^{99;90}.

Na análise univariada, a realização de procedimento cirúrgico foi um fator de risco para aquisição de ERC, sendo uma característica presente na maioria dos casos (84,6%), o que está em acordo com outros estudos que também descrevem a realização de cirurgia sendo mais frequente em pacientes infectados ou colonizados com ERC^{97;101}. Este dado corrobora a informação de que os procedimentos médicos contribuem de forma importante para o aumento da suscetibilidade do paciente hospitalizado a certas infecções¹⁰¹.

Este estudo demonstrou a presença de associação estatisticamente significativa entre o tempo de internação até a coleta da amostra biológica e o isolamento de Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos, e esta associação permaneceu significativa no modelo da regressão logística. Pacientes casos apresentaram uma mediana de 34 dias entre o tempo de internação e a coleta, estando de acordo com estudos que descrevem um período entre a admissão e o isolamento da Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos que varia de duas a quatro semanas^{36;102}. Esse fato pode contribuir para caracterizar a infecção por ERC como uma complicação tardia da hospitalização⁶⁹ e, até mesmo, como um fator determinante do aumento no tempo de permanência hospitalar, uma vez que a variável tempo total de internação também foi significativa na análise univariada, com p-valor <0,001. Esta variável não se manteve significativa no modelo multivariado por estar correlacionada com o tempo de internação até a coleta.

Algumas limitações devem ser consideradas neste estudo. Por tratar-se de um estudo retrospectivo, algumas informações importantes não estavam disponibilizadas no banco de dados do hospital e, dessa forma, não puderam contribuir para as análises realizadas. A variabilidade dos dados quantitativos indica a baixa precisão decorrente do pequeno número de observações, o que indica um poder limitado que, por sua vez, pode resultar na não identificação de associações válidas.

7 CONCLUSÃO

Este estudo investigou os fatores de risco associados a colonização ou infecção por Enterobactéria resistente aos carbapenêmicos em diferentes unidades de internação hospitalar. Foi possível verificar que, independentemente da Enterobactéria isolada, do tipo de infecção do paciente ou da unidade de internação, o tempo de permanência hospitalar e a realização de procedimentos cirúrgicos influenciam na aquisição de ERC. Estes dados assinalam a importância da implementação de medidas preventivas eficazes para o bloqueio da dispersão da ERC no ambiente hospitalar, principalmente por parte dos profissionais de saúde, pois estes apresentam livre acesso às unidades de internação de um hospital e estão envolvidos na realização de diversos procedimentos nos pacientes internados.

Diante da alta capacidade de disseminação de ERC no ambiente nosocomial, medidas como triagem para identificação de pacientes colonizados ou infectados, estabelecimento de precaução de contato entre pacientes portadores, higienização das mãos, políticas educativas e vigilância ativa da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar são de fundamental importância.

Os resultados obtidos neste estudo ressaltam a importância de limitar o tempo de internação dos pacientes e reforçar a vigilância naqueles submetidos a procedimentos cirúrgicos. O conhecimento dos fatores de risco associados à aquisição e a instituição de medidas preventivas pode contribuir decisivamente para a diminuição da propagação destes microrganismos no serviço hospitalar.

REFERÊNCIAS

1. Temkin E, Adler A, Lerner A, Carmeli Y. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Biology, Epidemiology, and Management. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1323: 22–42.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for Control of Infections with Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Acute Care Facilities. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009; 58(10):256-60.
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Brasília: Anvisa, 2013.
4. Casellas JM. Resistencia a los Antibacterianos en América Latina: Consecuencias para la infectología. *Rev Panam Salud Publica.* 2011; 30(6):519–28.
5. Paterson DL. Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Med.* 2006; 34 (6 Suppl 1):20–8.
6. Torres-Gonzalez P, Cervera-Hernandez ME, Niembro-Ortega MD, Leal-Vega F, Cruz-Hervert LP, García-García L, Galindo-Fraga A, Martínez-Gamboa A, Bobadilla-Del Valle M, Sifuentes-Osornio J, Ponce-de-Leon A. Factors Associated to Prevalence and Incidence of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Fecal Carriage: A Cohort Study in a Mexican Tertiary Care Hospital. *PLoS One.* 2015; 10(10):1-13.
7. Bonten MJ. Colonization Pressure: a Critical Parameter in the Epidemiology of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Crit Care.* 2012; 16(4): 1-2.
8. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen O, Seifert H, Woodford N, Nordmann P. Rapid Evolution and Spread of Carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(5):413–31.
9. Boyle DP, Zembower TR. Epidemiology and Management of Emerging Drug-Resistant Gram-Negative Bacteria: Extended-Spectrum Beta-Lactamases and Beyond. *Urol Clin North Am.* 2015; 42(4): 493–505.

10. Eshetie S, Unakal C, Gelaw A, Ayelign B, Endris M, Moges F. Multidrug Resistant and Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae among Patients with Urinary Tract Infection at Referral Hospital, Northwest Ethiopia. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015; 4:1-8.
11. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, Tal I, Marzel A, Gal-Mor O, Maor Y, Rahav G. Outcome of Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18(1):54–60.
12. Bleumin D, Cohen MJ, Moranne O, Esnault VL, Benenson S, Paltiel O, Tzukert K, Mor-Yosef Levi I, Ben-Dov IZ, Levi R, Bloch A, Haviv YS 2012. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* is Associated with Poor Outcome in Hemodialysis Patients. *J Infect*. 2012; 65(4): 318–325.
13. Martínez-Martínez L, Pascual A, Hernández-Allés S, Alvarez-Díaz D, Suárez AI, Tran J, Benedí VJ, Jacoby GA. Roles of Beta-Lactamases and Porins in Activities of Carbapenems and Cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43(7):1669-73.
14. Charrel RN, Pagès JM, De Micco P, Mallea M. Prevalence of Outer Membrane Porin Alteration in Beta-Lactam-Antibiotic-Resistant *Enterobacter aerogenes*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996; 40(12):2854–8.
15. Logan LK. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: An Emerging Problem in Children. *Clin Infect Dis*. 2012; 55(6):852-9.
16. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of Beta-Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(3):969-76.
17. Ruppé É, Woerther PL, Barbier F. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacilli. *Ann Intensive Care*. 2015; 5(1):1-15.
18. Del Franco M, Paone L, Novati R, Giacomazzi CG, Bagattini M, Galotto C, Montanera PG, Triassi M, Zarrilli R. Molecular Epidemiology of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae in Valle d'Aosta Region, Italy, Shows the Emergence of KPC- 2 Producing *Klebsiella pneumoniae* Clonal Complex 101 (ST101 and ST1789). *BMC Microbiol*. 2015;15(1):1-9.
19. Ambler RP. The Structure of Beta-Lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1980; 289(1036):321–31.

20. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A Functional Classification Scheme for Beta-Lactamases and its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39(6):1211–33.
21. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The Versatile Beta-Lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(3):440–58.
22. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica N°01/2013: Medidas de Prevenção e Controle de Infecções por Enterobactérias Multirresistentes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2013.
23. Jacoby GA. AmpC Beta-Lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009; 22(1):161–82.
24. Bush K. New Beta-Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. *Clinical Infectious Diseases.* *Clin Infect Dis.* 2001; 32(7):1085-9.
25. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, Vlieghe E, Hara GL, Gould IM, Goossens H, Greko C, So AD, Bigdeli M, Tomson G, Woodhouse W, Ombaka E, Peralta AQ, Qamar FN, Mir F, Kariuki S, Bhutta ZA, Coates A, Bergstrom R, Wright GD, Brown ED, Cars O. Antibiotic Resistance - The Need for Global Solutions. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13(12):1057–98.
26. Bialek-Davenet S, Criscuolo A, Ailloud F, Passet V, Jones L, Delannoy-Vieillard AS, Garin B, Le Hello S, Arlet G, Nicolas-Chanoine MH, Decré D, Brisse S. Genomic Definition of Hypervirulent and Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clonal Groups. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(11):1812–20.
27. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing Organisms. *J Hosp Infect.* 2009; 73(4): 345–54.
28. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae: here is the Storm! *Trends Mol Med.* 2012; 18(5):263–72.
29. Leavitt A, Carmeli Y, Chmelnitsky I, Goren MG, Ofek I, Navon- Venezia S. Molecular Epidemiology, Sequence Types, and Plasmid Analyses of KPC Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Israel. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54(7):3002–6.

30. Spanu T, De Angelis G, Cipriani M, Pedruzzi B, D'Inzeo T, Cataldo MA, Sganga G, Tacconelli E. In vivo Emergence of Tigecycline Resistance in Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56(8):4516-8.

31. Cuzon G, Naas T, Truong H, Villegas MV, Wisell KT, Carmeli Y, Gales AC, Venezia SN, Quinn JP, Nordmann P. Worldwide Diversity of *Klebsiella pneumoniae* that Produce Beta-Lactamase bla_{KPC-2} Gene. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16(9):1349-56.

32. Arnold RS, Thom KA, Sharma S, Phillips M, Kristie Johnson J, Morgan DJ.. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Journal of the Southern Medical Association*. 2011; 104(1):40-5

33. Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J. Detection of KPC Carbapenem-Hydrolyzing Enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(2):776-8.

34. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR, Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M.. Predictors of Mortality in Bloodstream Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: Importance of Combination Therapy. *Clin Infect Dis*. 2012; 55(7):943-50

35. Hawkey, PM, Jones AM. The Changing Epidemiology of Resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64 (Suppl1):i3-10.

36. Mouloudi E, Protonotariou E, Zagorianou A, Iosifidis E, Karapanagiotou A, Giasnetsova T, Tsioka A, Roilides E, Sofianou D, Gritsi-Gerogianni N. Bloodstream infections Caused by Metallo-Beta Lactamase/*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* among Intensive Care Unit Patients in Greece: Risk Factors for Infection and Impact of Type of Resistance on Outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010; 31(12):1250-6.

37. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC. Novel Carbapenem-Hydrolyzing Beta-Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45(4):1151-61.

38. Archibald L, Phillips L, Monnet D, McGowan JE Jr., Tenover F, Gaynes R. Antimicrobial Resistance in Isolates from Inpatients and Outpatients in the United States: Increasing Importance of the Intensive Care Unit. *Clin Infect Dis*. 1997; 24(2):211-5.
39. Fridkin SK, Steward CD, Edwards JR, Pryor ER, McGowan JE Jr, Archibald LK, Gaynes RP, Tenover FC. Surveillance of Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance in United States Hospitals: Project ICARE Phase 2. Project Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) Hospitals. *Clin Infect Dis*. 1999; 29(2):245-52.
40. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, Cornaglia G, Garau J, Gniadkowski M, Hayden MK, Kumarasamy K, Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP. Clinical Epidemiology of the Global Expansion of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(9):785-96.
41. Agency for Healthcare Research and Quality. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE) Control and Prevention Toolkit. AHR, 2014.
42. Wei ZQ, Du XX, Yu YS, Shen P, Chen YG, Li LJ. Plasmid-Mediated KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae* Isolate from China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(2):763–5.
43. Li G, Wei Q, Wang Y, Du X, Zhao Y, Jiang X. Novel Genetic Environment of the Plasmid-Mediated KPC-3 Gene Detected in *Escherichia coli* and *Citrobacter freundii* Isolates from China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011; 30(4):575–80.
44. Ge C, Wei Z, Jiang Y, Shen P, Yu Y, Li L. Identification of KPC-2-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in China. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(5):1184–6.
45. Navon-Venezia S, Leavitt A, Schwaber MJ, Rasheed JK, Srinivasan A, Patel JB, Carmeli Y. First Report on a Hyperepidemic Clone of KPC-3-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel Genetically Related to a Strain Causing Outbreaks in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(2): 818–20.
46. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, Shalit I, Carmeli Y. Containment of a Country-Wide Outbreak of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli Hospitals via a Nationally Implemented Intervention. *Clin Infect Dis*. 2011; 52(7):848–55.

47. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe 2014.

48. Giani T, D'Andrea MM, Pecile P, Borgianni L, Nicoletti P, Tonelli F, Bartoloni A, Rossolini GM. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 258 Producing KPC-3 Carbapenemase, Italy. *J Clin Microbiol* 2009; 47(11): 3793–4.

49. Naas T, Nordmann P, Vedel G, Poyart C. Plasmid-Mediated Carbapenem Hydrolyzing Beta-Lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* Isolate from France. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(10): 4423–4.

50. Cuzon G, Naas T, Demachy MC, Nordmann P. Nosocomial Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* Harboring bla KPC-3 in France Subsequent to a Patient Transfer from Italy. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 39(5):448-9.

51. Cuzon G, Naas T, Demachy MC, Nordmann P. Plasmid-Mediated Carbapenem-Hydrolyzing Beta-Lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* Isolate from Greece. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(2):796–7.

52. Tegmark Wisell K, Haeggman S, Gezelius L, Thompson O, Gustafsson I, Ripa T, Olsson-Liljequist B. Identification of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase in Sweden. *Euro Surveill*. 2007; 12(12):1220-3.

53. Van der Bij AK, Pitout JD. The Role of International Travel in the Worldwide Spread of Multiresistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67(9):2090–100.

54. Curiao T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, Cantón R. Emergence of bla KPC-3-Tn4401a Associated with a pKPN3/4-Like Plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* Clones in Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2010; 65(8):1608–14.

55. Woodford N, Zhang J, Warner M, Kaufmann ME, Matos J, Macdonald A, Brudney D, Sompolinsky D, Navon-Venezia S, Livermore DM. Arrival of *Klebsiella pneumoniae* Producing KPC Carbapenemase in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62(6):1261–4.

56. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2013. Vital Signs: Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62(9):165-70.

57. Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) November 2015 Update - CRE Toolkit . National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases.
58. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Suarez CJ, Lopez JA, Vallejo M, Quinn JP. First Detection of the Plasmid-Mediated Class A Carbapenemase KPC-2 in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(8):2880–2.
59. Mojica MF, Correa A, Vargas DA, Maya JJ, Montealegre MC, Rojas LJ, Ruiz SJ, Quinn JP, Villegas MV. Molecular Correlates of the Spread of KPC-Producing Enterobacteriaceae in Colombia. Int J Antimicrob Agents. 2012; 40(3):277–9.
60. Pasteran FG, Otaegui L, Guerriero L, Radice G, Maggiora R, Rapoport M, Faccone D, Di Martino A, Galas M. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2, Buenos Aires, Argentina. Emerg Infect Dis. 2008; 14(7):1178–80.
61. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial Resistance among Gram-Negative Bacilli Isolated from Latin America: Results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). Diagn Microbiol Infect Dis. 2012; 73(4):354–60.
62. Monteiro J, Santos AF, Asensi MD, Peirano G, Gales AC. First Report of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Brazil. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2009; 53(1):333-4.
63. Peirano G, Seki LM, Val Passos VL, Pinto MC, Guerra LR, Asensi MD. Carbapenem-Hydrolysing Beta-Lactamase KPC- 2 in *Klebsiella pneumoniae* Isolated in Rio de Janeiro, Brazil. J Antimicrob Chemother. 2009;63(2):265-8.
64. Chagas TP, Seki LM, da Silva DM, Asensi MD. Occurrence of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Hospital Wastewater. J Hosp Infect. 2011; 77(3):281.
65. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [homepage na internet]. Enzima KPC: Entenda o que é [acesso em 20 fev 2016]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>.
66. Biberg CA, Rodrigues ACS, do Carmo SF, Chaves CE, Gales AC, Chang MR. KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Hospital in the Midwest Region of Brazil. Braz J Microbiol. 2015; 46(2):501-4.

67. Nadkarni AS, Schliep T, Khan L, Zeana CB. Cluster of Bloodstream Infections Caused by KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Manhattan. Am J Infect Control. 2009; 37(2):121-6.
68. Lin MY, Lyles-Banks RD, Lolans K, Hines DW, Spear JB, Petrak R, Trick WE, Weinstein RA, Hayden MK 2013. The Importance of Long-Term Acute Care Hospitals in the Regional Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis. 2013; 57(9): 1246–52.
69. Paño Pardo JR, Serrano Villar S, Ramos Ramos JC, Pintado V. Infections Caused by Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Risk Factors, Clinical Features and Prognosis. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2014; 32 (Supl4):41-8.
70. Wiener-Well Y, Rudensky B, Yinnon AM, Kopuit P, Schlesinger Y, Broide E, Lachish T, Raveh D. Carriage Rate of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Hospitalized Patients during a National Outbreak. J Hosp Infect. 2010; 74(4):344-9.
71. Swaminathan M, Sharma S, Poliansky Blash S, Patel G, Banach DB, Phillips M, LaBombardi V, Anderson KF, Kitchel B, Srinivasan A, Calfee DP. Prevalence and Risk Factors for Acquisition of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in the Setting of Endemicity. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013; 34(8): 809-17.
72. Debby BD, Ganor O, Yasmin M, David L, Nathan K, Ilana T, Dalit S, Smollan G, Galia R. Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization in an Intensive Care Unit. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31(8):1811-7.
73. Armand-Lefèvre L, Angebault C, Barbier F, Hamelet E, Defrance G, Ruppé E, Bronchard R, Lepeule R, Lucet JC, El Mniai A, Wolff M, Montravers P, Plésiat P, Andremont A. Emergence of Imipenem-Resistant Gram-Negative Bacilli in Intestinal Flora of Intensive Care Patients. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57(3):1488-95.
74. Prabaker K, Lin MY, McNally M, Cherabuddi K, Ahmed S, Norris A, Lolans K, Odeh R, Chundi V, Weinstein RA, Hayden MK. Transfer from High-Acuity Long-Term Care Facilities is Associated with Carriage of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: A Multihospital Study. Infect Control Hosp Epidemiol. 2012; 33(12):1193-9.
75. World Health Organization. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance, 2014. Geneva: WHO; 2014.

76. Leavitt A, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains in an Israeli Hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(8):3026-9.
77. Tsai MH, Chu SM, Hsu JF, Lien R, Huang HR, Chiang MC, Fu RH, Lee CW, Huang YC. Risk Factors and Outcomes for Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteremia in the NICU. *Pediatrics*. 2014;133(2):322-9.
78. Ruppé E, Armand-Lefèvre L, Estellat C, El-Mniai A, Boussadia Y, Consigny PH, Girard PM, Vittecoq D, Bouchaud O, Pialoux G, Esposito-Farèse M, Coignard B, Lucet JC, Andremont A, Matheron S. Acquisition of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae by Healthy Travelers to India, France, February 2012 to March 2013. *Euro Surveill*. 2014; 19(14):1-4.
79. Akova M, Daikos GL, Tzouveleakis L, Carmeli Y. Interventional Strategies and Current Clinical Experience with Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(5):439-48.
80. Tzouveleakis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: An Evolving Crisis of Global Dimensions. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25(4):682-707.
81. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunctive Therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29(12):1099-106.
82. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenber K, Eskira S, Peled N, Nativ R, Schlaeffer F, Sherf M. Attributable Mortality Rate for Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009; 30(10):972-6.
83. ANVISA. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília. 2014.
84. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne, Pennsylvania. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010.
85. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne, Pennsylvania. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.

86. ANVISA. Nota técnica N°1/2010: Medidas para Identificação, Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde por Microrganismos Multirresistentes. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília.2010.
87. Naas T, Cuzon G, Villegas MV, Lartigue MF, Quinn JP, Nordmann P. Genetic Structures at the Origin of Acquisition of the beta-Lactamase *blaKPC* Gene. *Antimicrob Agents Chemother*.2008; 52 (4):1257-63.
88. Feldman N, Adler A, Molshatzki N, Navon-Venezia S, Khabra E, Cohen D, Carmeli Y. Gastrointestinal Colonization by KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Following Hospital Discharge: Duration of Carriage and Risk Factors for Persistent Carriage. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19(4):190–6.
89. Gómez Rueda V, Zuleta Tobón JJ . Risk Factors for Infection with Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: A Case-Control Study. *Colomb Med (Cali)*. 2014; 45(2):54-60.
90. Correa L, Martino MD, Siqueira I, Pasternak J, Gales AC, Silva CV, Camargo TZ, Scherer PF, Marra AR. A Hospital-Based Matched Case–Control Study to Identify Clinical Outcome and Risk Factors Associated with Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection. *BMC Infectious Diseases*. 2013; 13(80):1-8.
91. Tuon FF, Rocha JL, Toledo P, Arend LN, Dias CH, Leite TM, Penteado-Filho SR, Pilonetto M, Zavascki AP. Risk Factors for KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Braz J Infect Dis*. 2012; 16(5):416–9.
92. Ivády B, Kenesei É, Tóth-Heyn P, Kertész G, Tárkányi K, Kassa C, Ujhelyi E, Mikos B, Sápi E, Varga-Heier K, Guóth G, Szabó D. Factors Influencing Antimicrobial Resistance and Outcome of Gram-Negative Bloodstream Infections in Children. *Infection*. 2015; 43:1-13.
93. Ling ML, Tee YM, Tan SG, Amin IM, How KB, Tan KY, Lee LC. Risk Factors for Acquisition of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in an Acute Tertiary Care Hospital in Singapore. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015; 4(26):1-7.
94. Norcia BMM, Capobianco JD, Vespero EC, Pelisson M. Pacientes Pediátricos Portadores de Enterobactéria Resistente aos Carbapenêmicos em um Hospital Escola do Sul do Brasil. *J Infect Control*. 2015; 4(1): 11-5.

95. Miller BM, Johnson SW. Demographic and Infection Characteristics of Patients with Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in a Community Hospital: Development of a Bedside Clinical Score for Risk Assessment. *Am J Infect Control*. 2016; 44(2):134-7.
96. Fitzpatrick M, Zembower T, Malczynski M, Qi C, Bolon MK. Outcomes of an Enhanced Surveillance Program for Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014; 35(4):419–22.
97. Alves AP, Behar PRP. Infecções Hospitalares por Enterobactérias Produtoras de KPC em um Hospital Terciário do Sul do Brasil. *Revista da AMRIGS*. 2013; 57(3): 213-8.
98. Feldman N, Adler A, Molshatzki N, Navon-Venezia S, Khabra E, Cohen D, Carmeli Y. Gastrointestinal Colonization by KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Following Hospital Discharge: Duration of Carriage and Risk Factors for Persistent Carriage. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(4):190–6.
99. Tuon FF, Rocha JL, Toledo P, Arend LN, Dias CH, Leite TM, Penteado-Filho SR, Pilonetto M, Zavascki AP. Risk Factors for KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia. *Braz J Infect Dis*. 2012; 16(5):416–9.
100. Bhargava A, Hayakawa K, Silverman E, Haider S, Alluri KC, Datla S, Diviti S, Kuchipudi V, Muppavarapu KS, Lephart PR, Marchaim D, Kaye KS. Risk Factors for Colonization due to Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae among Patients Exposed to Long-Term Acute Care and Acute Care Facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014; 35(4):398–405.
101. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenberk K, Livshiz-Riven I, Schlaeffer F, Sherf M, Peled N. Risk Factors for Developing Clinical Infection with Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Hospital Patients Initially only Colonized with Carbapenem-Resistant *K pneumoniae*. *Am J Infect Control*. 2012; 40(5):421-5.
102. Paño-Pardo JR, Ruiz-Carrascoso G, Navarro-San Francisco C, Gómez-Gil R, Mora-Rillo M, Romero-Gómez MP, Fernández-Romero N, García-Rodríguez J, Pérez-Blanco V, Moreno-Ramos F, Mingorance J. Infections Caused by OXA-48-Producing *Klebsiella pneumoniae* in a Tertiary Hospital in Spain in the Setting of a Prolonged, Hospital-Wide Outbreak. *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68(1):89-96.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Resistência das Enterobactérias aos Carbapenêmicos

Pesquisador: CRISPIM CERUTTI JUNIOR

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 38312314.3.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 908.781

Data da Relatoria: 09/12/2014

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa de Crispim Cerutti Junior, professor lotado no Departamento de Medicina Social do Centro de Ciências da Saúde, UFES.

JUSTIFICATIVA: Os membros da família Enterobacteriaceae habitam a flora intestinal e estão entre os principais patógenos humanos que causam infecções como cistite, pielonefrite, sepse, pneumonia, peritonite, meningite e infecções associadas ao uso de cateter. Os relatos de enterobactérias resistentes a carbapenêmicos ocorridos em todo o mundo estabelecem três classes de carbapenemases: as metalbetalactamases (principalmente os tipos IMP, VIM e NDM), as oxa-carbapenemases (principal tipo OXA-48), e a classe do tipo KPC. As carbapenemases do tipo KPC e NDM são as mais relevantes no aspecto epidemiológico tendo em vista sua ampla disseminação mundial. A disseminação da resistência a carbapenêmicos em enterobactérias constitui um importante problema de saúde pública mundial, com elevado índice de mortalidade e reduzido número de opções terapêuticas.

OBJETIVO: Comparar o perfil de pacientes diagnosticados com Enterobactérias resistentes aos Carbapenêmicos, com o perfil dos pacientes internados na mesma unidade de internação e no mesmo período, e que não apresentaram Enterobactérias resistentes aos Carbapenêmicos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Este CEP julgou procedente a justificativa do pesquisador quanto a não apresentação dos documentos autorizando o desenvolvimento do projeto em cada um dos hospitais, transcrita abaixo.

“não foi inserida porque a seleção dos hospitais participantes somente será feita após a análise dos resultados das culturas realizadas no LACEN, o que depende da aprovação ética do Projeto. Entretanto, inserimos na Plataforma Brasil documento denominado "autorização de participação em pesquisa" que deverá ser assinado pelo representante legal de cada hospital antes do início da coleta de dados.”

* Fica deliberado, no entanto, que o pesquisador deve incluir, assim que obtidos, como NOTIFICAÇÃO na Plataforma Brasil, os documentos autorizando o desenvolvimento do projeto em cada um dos hospitais.

Todas as demais pendências foram adequadas e o projeto está de acordo com as exigências da resolução 466/12 do CNS.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

ANEXO B – Anuência da Secretaria de Saúde do Estado

GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

AUTORIZAÇÃO PARA DESENVOLVIMENTO DE PROJETO DE PESQUISA


Eu, Anézia Lima Chaves Ribeiro, Farmacêutica, Coordenadora Geral do Laboratório Central Estadual de Saúde do Espírito Santo – LACEN/SESA/ES, concordo na participação da mestranda da Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, Lílian Silva Lavagnoli, envolvendo amostras de pacientes atendidos em Hospitais da Região Metropolitana de Vitória, que tiveram amostras suspeitas de KPC enviadas ao LACEN/ES e confirmadas como Enterobactérias resistentes aos Carbapenêmicos no Laboratório de Microbiologia Médica do LACEN/ES no período de 01/01/2013 a 31/07/2014.

O Trabalho será desenvolvido sob a orientação do pesquisador responsável professor Dr. Crispim Cerutti Junior.

O início da pesquisa será validado após a apresentação da carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFES à gerência supracitada.

Comunicamos que a autorização para a liberação dos exames será precedida do Termo de confidencialidade.

Vitória/ES, 23 de Setembro de 2014.


Anézia Lima Chaves Ribeiro
Coordenadora Geral
Nº Funcional: 1524607
LACEN/ES
Anézia Lima Chaves Ribeiro
Coordenadora Geral do LACEN/ES

ANEXO C – Ficha estruturada para coleta de dados

1. Nome: _____
2. Data de nascimento: __/__/____
3. Sexo: ☐ Masculino ☐ Feminino ☐ Ignorado
4. Idade: ____ anos
5. Hospital de internação: _____
6. Unidade de internação: _____
7. Data de admissão hospitalar: _____
8. Data da coleta: _____
9. Data de alta hospitalar, óbito ou transferência hospitalar: _____
10. Internação anterior nos últimos 90 dias: ☐ Não ☐ Sim
11. Internação na Unidade de Terapia Intensiva (UTI): ☐ Não ☐ Sim
12. Uso de cateter e/ou dispositivo:
☐ Não
☐ Sim _____
13. Procedimento cirúrgico realizado durante a internação atual:
☐ Não
☐ Sim _____
14. Comorbidades:
☐ Não
☐ Sim _____
15. Antimicrobianos utilizados durante a internação atual:
☐ Não
☐ Sim _____